

Поглиблене вивчення спектра антимікробної активності ряду нових конденсованих багатоядерних аренів

А. В. Гуменна, Д. В. Ротар, С. Є. Дейнека, Н. Д. Яковичук, О. О. Бліндер

ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

Нераціональне використання протимікробних препаратів призводить до селекції та поширення стійких до їхньої дії штамів мікроорганізмів, що потребує пошуку нових високоефективних засобів. Перспективними для дослідження нових високоактивних протимікробних та антисептичних засобів виявилися фосфонієві сполуки та їхні похідні.

Мета роботи – дослідити антимікробну дію ряду нових конденсованих багатоядерних аренів щодо розширеного спектра музейних тест-культур.

Матеріали та методи. Досліджено фосфонієву сіль та її похідну з ряду конденсованих багатоядерних аренів. Для поглибленого вивчення протибактеріальної та протигрибкової активності вказаних сполук відібрано 14 тест-культур музейних штамів грампозитивних і грамнегативних бактерій, різних за таксономічним положенням, а також дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Експерименти для визначення біологічної активності нових конденсованих багатоядерних аренів здійснювали за допомогою мікрометоду з використанням одноразових полістиролових планшет і мікротитраторів Такачі.

Результати. Фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів мають високу протимікробну активність. Найвищу антимікробну активність проявляла похідна фосфонієвої солі на основі багатоядерних конденсованих аренів (сполука II). Її мінімальні інгібуючі концентрації стосовно грампозитивних (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 3941) бактерій були 0,48 мг/мл і 0,03 мг/мл відповідно, а щодо вегетативних клітин спороутворювальних бацил (*B. cereus* ATCC 10702) – 0,24 мг/мл. Дещо нижчу протимікробну активність проявила фосфонієва сіль (сполука I). Її мінімальні інгібуючі концентрації дорівнювали 1,95 мг/мл стосовно грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus* 209 і *M. luteus* ATCC 3941 і вегетативних клітин спороутворювальних бацил *B. cereus* ATCC 10702). Помірну протимікробну активність обидві аналізовані сполуки показали щодо грамнегативних штамів мікроорганізмів. Мінімальні інгібуючі концентрації при цьому становили від 31,2 до 125,0 мг/мл. Досліджувані фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів виявили помірну протигрибкову активність стосовно *C. utilis* ЛІА-01 (МІК сполуки I дорівнює 31,2 мг/мл, а сполуки II – 7,8 мг/мл і МФЦК сполуки I становить 62,5 мг/мл, а сполуки II – 15,6 мг/мл).

Висновки. Встановили, що досліджувані фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів виявили більшу біологічну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів. Обидві вивчені сполуки показали помірну протимікробну активність стосовно грамнегативних мікроорганізмів і дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Ключові слова:

фосфонієві солі, антибактеріальні засоби, протигрибкові засоби, кандиди.

Запорізький медичний журнал.

– 2017. – Т. 19, № 3(102). – С. 369–372

DOI:

10.14739/2310-1210.2017.3.100939

E-mail:

anna_humenna@bsmu.edu.ua

Углублённое изучение спектра антимикробной активности ряда новых конденсированных многоядерных арен

А. В. Гуменная, Д. В. Ротарь, С. Е. Дейнека, Н. Д. Яковичук, Е. А. Блиндер

Нерациональное использование противомикробных препаратов приводит к селекции и распространению стойких штаммов микроорганизмов, что требует поиска новых высокоэффективных средств. Перспективными для изучения новых высокоактивных противомикробных и антисептических средств оказались фосфониевые соединения и их производные.

Цель работы – исследовать антимикробное действие ряда новых конденсированных многоядерных арен относительно расширенного спектра музейных тест-культур.

Материалы и методы. Изучались фосфониевая соль и её производное ряда конденсированных многоядерных арен. Для углублённого изучения протибактериальной и противогрибковой активности указанных соединений отобрано 14 тест-культур музейных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, различных по таксономическому положению, а также дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Эксперименты для определения биологической активности новых конденсированных многоядерных арен проводили микрометодом с использованием одноразовых полистироловых планшет и микротитратора Такачи.

Результаты. Фосфониевая соль и её производное ряда конденсированных многоядерных арен обладают высокой противомикробной активностью. Наивысшую противомикробную активность к грамположительным микроорганизмам (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 3941) проявляет производное ряда конденсированных многоядерных арен (соединение II). Его минимальная ингибирующая концентрация соответствовала 0,48 мг/мл и 0,03 мг/мл, а в отношении вегетативных клеток спорообразующих бацилл (*B. cereus* ATCC 10702) – 0,24 мг/мл. Более низкую противомикробную активность показала фосфониевая соль (соединение I). Её минимальные ингибирующие концентрации составляли 1,95 мг/мл в отношении грамположительных микроорганизмов (*S. aureus* 209 и *M. luteus* ATCC 3941 и в отношении вегетативных клеток спорообразующих бацилл *B. cereus* ATCC 10702). Умеренную противомикробную активность оба изучаемых соединения показали относительно грамотрицательных штаммов микроорганизмов. Минимальные ингибирующие концентрации при этом составляли от 31,2 до 125 мг/мл. Изученная фосфониевая соль и её производное ряда конденсированных многоядерных арен проявляют умеренную противогрибковую активность в отношении *C. utilis* ЛІА-01 (МІК соединения I равна 31,2 мг/мл, а соединения II – 7,8 мг/мл; МФЦК соединения I равна 62,5 мг/мл, а соединения II – 15,6 мг/мл).

Ключевые слова:

фосфониевые соли, антибактериальные средства, противогрибковые средства, кандиды.

Запорожский медицинский журнал.

– 2017. – Т. 19, № 3(102). – С. 369–372

Выводы. Определили, что фосфониевая соль и её производное ряда конденсированных многоядерных аренов продемонстрировали высокую противомикробную активность в отношении грамположительных микроорганизмов. Данные соединения показали умеренную противомикробную активность в отношении грамотрицательных микроорганизмов и дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Key words:

phosphonium salts, antibacterial agents, antifungal agents, candida.

Zaporozhye

medical journal

2017; 19 (3), 369–372

Detailed studying of the spectrum of antimicrobial activity of several new condensed polynuclear arens

A. V. Gumenna, D. V. Rotar, A., S. Ye. Dejneka, N. D. Yakovychuk, O. O. Blinder

Uncontrolled use of antimicrobial drugs leads to the selection and spread of resistant strains of microorganisms. Phosphonium compounds and their derivatives have been chosen as very perspective during searching of new highly active antimicrobial and antiseptic drugs.

Objective. To study antimicrobial action of some new condensed polynuclear arens at broad spectrum of reference cultures.

Materials and methods. The phosphonium salt and its derivatives from the condensed polynuclear arens were studied. Fourteen reference cultures of Gram-positive and Gram-negative bacteria from different taxonomic position and culture of yeast fungi genus *Candida* were used. Antimicrobial activity of the test substances was studied with micromethod with disposable polystyrene plates and Takachi microtiter.

Results. Phosphonium salt and derivatives based on the condensed polynuclear arens have high antimicrobial activity. The derivatives of phosphonium salt based on the condensed polynuclear arens (compound II) show the highest antimicrobial activity against Gram-positive microorganisms (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 3941, and non-spore forms *B. cereus* ATCC 10702). The minimal inhibitory concentrations of this compound were 0.48 mcg/ml, 0.03 mcg/ml and 0.24 mcg/ml respectively. Less active antibacterial activity showed compound I. Its' minimal inhibitory concentrations (MIC) were 1.95 mcg/ml against Gram-positive microorganisms (*S. aureus* and 209 *M. luteus* ATCC 3941 and vegetative cells of spore-forming bacillus – *B. cereus* ATCC 10702). Both compounds have shown moderate antimicrobial activity against Gram-negative microorganisms. Minimum inhibitory concentrations were in range from 31.2 to 125 mcg/ml. Phosphonium salt and its derivative based on condensed polynuclear arens, that were studied, exhibit moderate antifungal activity against *C. utilis* LIA – 01 (MIC of compound I was 31.2 mcg/ml, compound II – 7.8 mcg/ml; MFC of compound I – 62.5 mcg/ml, compound II – 15.6 mcg/ml).

Conclusions: It was established that phosphonium salt and its derivative based on the condensed polynuclear arens, that were studied, demonstrated the highest antimicrobial activity against gram-positive microorganisms. The compound II demonstrates higher antimicrobial activity than compound I. Both tested compounds showed moderate antimicrobial activity against gram-negative bacteria and yeast fungi from the *Candida* genus.

Нераціональне використання протимікробних препаратів призводить до селекції та поширення стійких до їхньої дії штамів мікроорганізмів. З одного боку, постійно збільшується антибіотикорезистентність, з іншого, є недоліки старих засобів: обмежений спектр дії та відсутня біологічна активність до нових чи природно стійких видів мікроорганізмів, незадовільна фармакокінетика, висока частота побічних реакцій. Це стимулює необхідність пошуку нових біологічно активних засобів [1–3].

Одним із таких перспективних напрямів виявлення нових високоактивних протимікробних засобів є вивчення фосфонієвих сполук [4].

Протимікробна активність фосфонієвих солей та їхніх похідних на основі багатовядерних конденсованих аренов раніше вивчалась нами на 6 тест-культурах мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922,

E. faecalis ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* 8236 F800, *C. albicans* ATCC 885–653), що описано в попередніх публікаціях [5,6]. Здійснені при цьому експерименти підтвердили: вивчення протибактеріальної та протигрибкової активності цих груп четвертинних фосфонієвих сполук є актуальним і потребує дальшого вивчення з кінцевою метою – створення сучасних антимікробних засобів. Речовини з групи фосфонієвих солей та їхніх похідних на основі багатовядерних конденсованих аренов, які володіли найвищою антимікробною активністю, доцільно дослідити на ширшому спектрі мікроорганізмів.

Мета роботи

Дослідити антимікробну дію ряду нових конденсованих багатовядерних аренов щодо розширеного спектра музейних тест-культур.

Матеріали і методи дослідження

Аналізували фосфонієву сіль (сполука I) та її похідну на основі конденсованих багатовядерних аренов (сполука II), хімічні формули яких зображено на *рисунку 1*.

Для вивчення антибактеріальної та протигрибкової активності сполук відібрали 14 тест-культур музейних штамів грампозитивних і грамотрицательних бактерій різних



Рис. 1. Хімічна структура ряду нових конденсованих багатовядерних аренов.

за таксономічним положенням (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 3941, *E. coli* O55, *E. coli* b, *H. alvei* 3168, *S. flexneri* 1a, *S. sonnei* 111d, *S. typhimurium* 441, *Y. pseudotuberculosis* 632, *Y. enterocolitica* 1466, *P. vulgaris* 4636, *P. mirabilis* 410, *B. cereus* ATCC 10702, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida* (*C. utilis* ЛІА-01).

Експерименти для встановлення біологічної активності досліджуваних сполук проводились за допомогою мікрометоду дворазових серійних розведень із використанням одноразових полістиролових планшет і мікротитраторів Такачі в оптимальному рідкому поживному середовищі для вказаних тест-культур, а саме: м'ясо-пептонний бульйон для бактерій, бульйон Сабуро для грибів. [5,7]. Готували вихідні мікробні суспензії тест-штамів за стандартом мутності 1×10^9 колоній утворювальних одиниць у мл (КУО/мл) згідно з наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р.

З вихідних суспензій тест-штамів мікроорганізмів підготували робочі суспензії з концентраціями 1×10^5 КУО/мл (для *C. utilis* використовували робочу суспензію з концентрацією 1×10^2 КУО/мл у рідкому середовищі Сабуро). У кожну лунку полістиролової планшети вносили по 0,05 мл робочої суспензії мікроорганізмів. Платиновим кошичком об'ємом 0,05 мл набирався матричний розчин дослідної речовини, концентрація якого дорівнювала 1000 мкг/мл, і вносили в першу лунку. В інші лунки першого ряду вносили наступні дослідні речовини таким самим чином. Послідовно повертаючи кошички, отримували розведення в усіх лунках від 500 мкг/мл до 0,015 мкг/мл. Аналогічно виконали експеримент на інших планшетах із наступними тест-культурами мікроорганізмів. Після цього планшети поміщали у вологу камеру термостата при температурі 37 °C, інкубували 24 год (для грибів – відповідно 28 °C, 48 год). Відсутність видимого росту в лунках із найменшою концентрацією відповідає мінімальній інгібуючій концентрації (МІК) препарату.

Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК) і мінімальної фунгіцидної концентрації (МФЦК) препарату робили висіви з кожної лунки, де був відсутній видимий ріст на чашки Петрі з поживними середовищами, як-от: м'ясо-пептонний агар для бактерій та агар Сабуро для грибів. Чашки Петрі інкубували за умов оптимальних для культивування використаних тест-культур. МБЦК і МФЦК відповідали тим концентраціям препаратів, що пригнічували ріст 99,9 % мікробних клітин.

Результати та їх обговорення

Результати щодо вивчення біологічної активності досліджуваних сполук (фосфонієвої солі та її похідної на основі багатоядерних конденсованих аренів) наведені в таблиці 1.

Як видно з даних, під час вивчення антимікробної активності сполук (фосфонієвої солі та її похідної на основі багатоядерних конденсованих аренів) виявлена найвища протимікробна активність у сполуки ІІ. Її мінімальні інгібуючі концентрації – 0,48 мкг/мл і 0,03 мкг/мл відповідно щодо грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus* 209 і *M. luteus* ATCC 3941), а щодо вегетативних клітин спороутворювальних бацил (*B. cereus* ATCC 10702) – 0,24 мкг/мл. Дещо нижчу антибактеріальну

активність проявила сполука І. Її мінімальні інгібуючі концентрації дорівнювали 1,95 мкг/мл стосовно грампозитивних мікроорганізмів *S. aureus* 209 і *M. luteus* ATCC 3941 і вегетативних клітин спороутворювальних бацил *B. cereus* ATCC 10702.

Вивчені фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів виявились менш активними щодо грамнегативних мікроорганізмів: *Y. pseudotuberculosis* 623, *Y. enterocolitica* 1466, *H. alvei* 3168, *S. typhimurium* 441, *P. vulgaris* 4636, *P. mirabilis* 410, *S. flexneri* 1a, *S. sonnei* 111d, *E. coli* O55, *E. coli* b. Їхні мінімальні інгібуючі концентрації становили від 31,2 до 125 мкг/мл.

Досліджувані речовини проявили помірну противікову активність щодо *C. utilis* ЛІА-01 (МІК сполуки І дорівнює 31,2 мкг/мл, а сполуки ІІ – 7,8 мкг/мл і МФЦК сполуки І становить 62,5 мкг/мл, а сполуки ІІ – 15,6 мкг/мл).

Висновки

1. Фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів мають високу антимікробну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів. Найвищу антимікробну активність проявляла сполука ІІ стосовно грампозитивних збудників (*S. aureus* 209, *M. luteus* ATCC 3941), її мінімальні інгібуючі концентрації – 0,48 мкг/мл і 0,03 мкг/мл відповідно, а щодо вегетативних клітин спороутворювальних бацил (*B. cereus* ATCC 10702) – 0,24 мкг/мл. Дещо нижчу антибактеріальну активність проявила сполука І.

2. Сполуки, що досліджували, показали помірну антимікробну активність щодо грамнегативних штамів мікроорганізмів. Мінімальні інгібуючі концентрації при цьому становили від 31,2 до 125 мкг/мл.

3. Вивчені фосфонієва сіль та її похідна на основі багатоядерних конденсованих аренів проявляють помірну противікову активність стосовно *C. utilis* ЛІА-01 (МІК сполуки І дорівнює 31,2 мкг/мл, а сполуки ІІ – 7,8 мкг/мл і МФЦК сполуки І становить 62,5 мкг/мл, а сполуки ІІ – 15,6 мкг/мл).

Перспективи подальших досліджень. Пошук

Таблиця 1. Антимікробна активність ряду нових конденсованих багатоядерних аренів (мкг/мл)

Тест-культури	Сполука І		Сполука ІІ	
	МІК	МБЦК/МФЦК	МІК	МБЦК/МФЦК
<i>S. aureus</i> 209	1,95	1,95	0,48	0,97
<i>M. luteus</i> ATCC3941	1,95	3,9	0,03	0,03
<i>E. coli</i> O55	125	125	125	125
<i>E. coli</i> b	62,5	125	62,5	62,5
<i>H. alvei</i> 3168	62,5	62,5	15,6	31,2
<i>S. flexneri</i> 1a	31,2	62,5	31,2	31,2
<i>S. sonnei</i> 111d	125	125	62,5	62,5
<i>S. typhimurium</i> 441	125	125	125	125
<i>Y. pseudotuberculosis</i> 632	31,2	31,2	62,5	62,5
<i>Y. enterocolitica</i> 1466	62,5	125	31,2	62,5
<i>P. vulgaris</i> 4636	62,5	125	31,2	62,5
<i>P. mirabilis</i> 410	125	125	62,5	62,5
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	1,95	3,9	0,24	0,97
<i>C. utilis</i> ЛІА-01	31,2	62,5	7,8	15,6

МІК: мінімальна інгібуюча концентрація; **МБЦК:** мінімальна бактерицидна концентрація; **МФЦК:** мінімальна фунгіцидна концентрація.

нових антимікробних засобів серед фосфонієвих солей та їхніх похідних залишається перспективним. Надалі є доцільним розширення спектра пошуку активності щодо грампозитивних мікроорганізмів похідної фосфонієвої солі на основі багатоядерних конденсованих аренів (сполуки II).

Список літератури

- [1] Unwarranted Use Of Broad – Spectrum Antibiotics / M. Low, R.D. Balicer, H. Bitterman et al. // *Value in Health*. – 2014. – Vol. 17. – №3. – С. 281.
- [2] Moellering R.C. Discovering new antimicrobial agents / R.C. Moellering // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2011. – Vol. 37. – №1. – С. 2–9.
- [3] Cully M. Antibacterial drugs: Redesigned antibiotic combats drug-resistant tuberculosis / M. Cully // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2014. – Vol. 13. – №4. – С. 256–257.
- [4] Гуменна А.В. Хіміотерапевтична ефективність гетероциклічної фосфонієвої сполуки з піримідиновим циклом на моделі генералізованої стафілококової інфекції / А.В. Гуменна // *Актуальна інфектологія*. – 2016. – №1(10). – С. 29–31.
- [5] Фосфонієві солі як потенційні антимікробні засоби / В.М. Листван, В.В. Листван, А.В. Малишевська, С.С. Дейнека // *Вісник Житомирського державного університету*. – 2008. – Вип. 41. – С. 228–232.
- [6] Гуменна А.В. Хіміотерапевтичні властивості фосфонієвих сполук із гетероциклічними фрагментами / А.В. Гуменна // *Клінічна та експериментальна патологія*. – 2013. – Т. XII. – №1. – С. 71–74.
- [7] Cheminform Abstract: Polyfunctional Pyrazoles. Part 9. Synthesis of 1-Alkyl(aryl)-3-[4-(hydroxymethyl)-1H-pyrazol-3-yl]ureas / M.K. Bratenko, M.M. Barus, D.V. Rotar et al. // *Cheminform*. – 2015. – Vol. 46(26).

References

- [1] Low, M., Balicer, R. D., Bitterman, H., Raz, R., & Liberman, N. (2014). Unwarranted Use Of Broad – Spectrum Antibiotics. *Value in Health*, 17(3), A281. doi: 10.1016/j.jval.2014.03.1635.
- [2] Moellering, R. C. (2011). Discovering new antimicrobial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(1), 2–9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.08.018.
- [3] Cully, M. (2014). Antibacterial drugs: Redesigned antibiotic combats drug-resistant tuberculosis. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(4), 256–257. doi:10.1038/nrd4287.
- [4] Humenna, A. V. (2016). Khimioterapevtichna efektyvnist heterotsyklichnoi fosfonievoi spolyky z pyrimidinovym tsyklom na modeli heneralizovanoi stafylokokovoi infektsii [Chemotherapy Efficiency of Phosphonium Heterocyclic Compounds with Pyrimidine Cycle in Models of Generalized Staph Infection]. *Aktual'naya infektologiya*, 1(10), 29–31. doi:10.22141/2312-413x.1.10.2016.74530. [in Ukrainian].
- [5] Listvan, V. M., Listvan, V. V., Malishevskaya, A. V., & Deineka, S. Ye. (2008). Fosfonievi soli yak potentsiini antymikrobnі zasoby [Phosphonium salts as a potential antimicrobial facilities]. *Visnyk Zhytomyrskoho derzhavnoho universytetu*, 41, 228–232. [in Ukrainian].
- [6] Gumenna, A. V. (2013). Khimioterapevtichni vlastyivosti fosfonievykh spolyk iz heterotsyklichnyimi frahmentamy [Chemotherapeutical properties of phosphonic compounds with heterocyclic fragments]. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiya*, XII(1), 71–74. [in Ukrainian].
- [7] Bratenko, M. K., Barus, M. M., Rotar, D. V., & Vovk, M. V. (2015). ChemInform Abstract: Polyfunctional Pyrazoles. Part 9. Synthesis of 1-Alkyl(aryl)-3-[4-(hydroxymethyl)-1H-pyrazol-3-yl]ureas. *Cheminform*, 46(26), doi:10.1002/chin.201526153.

Відомості про авторів:

Гуменна А. В., канд. мед. наук, асистент каф. мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Ротар Д. В., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Дейнека С. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Яковичук Н. Д., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Блиндер О. О., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторах:

Гуменная А. В., канд. мед. наук, ассистент кафедры микробиологии и вирусологии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина.

Ротарь Д. В., канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии и вирусологии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина.

Дейнека С. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии и вирусологии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина.

Яковичук Н. Д., канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии и вирусологии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина.

Блиндер Е. А., канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии и вирусологии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина.

Information about authors:

Gumenna A. V., PhD, assistant professor, Department of microbiology and virology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Rotar D. V., PhD, assistant professor, Department of microbiology and virology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Dejneka S. Ye., MD, Professor, Head of Department of Microbiology and Virology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Yakovychuk N. D., PhD, assistant professor of microbiology and virology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Blinder O. O., PhD, assistant professor, Department of microbiology and virology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 06.12.2016

Після доопрацювання / Revised: 23.12.2016

Прийнято до друку / Accepted: 26.01.2017